[Dal R. Istituto di Studi Superiori di Firenze.
Laboratorio di Patologia Generale, diretto dal Prof. A. Lustig].

LA REAZIONE FLOGISTICA NELL'ORGANISMO IN STATO ALLERGICO, STUDIATA SPECIALMENTE COLLA COLORAZIONE VITALE MEDIANTE IL TRYPANBLAU.

(Con 1 tavola a colori).

Dott. PIETRO RONDONI, aiuto e libero docente.

Estratto dallo Sperimentale (Archivio di Biologia normale e patologica)
Anno LXIX - Fasc. VI - Novembre-Dicembre 1915.

[Dal R. Istituto di Studi Superiori di Firenze.
Laboratorio di Patologia Generale, diretto dal Prof. A. Lustig].

LA REAZIONE FLOGISTICA NELL'ORGANISMO IN STATO ALLERGICO, STUDIATA SPECIALMENTE COLLA COLORAZIONE VITALE MEDIANTE IL TRYPANBLAU.

(Con 1 tavola a colori).

Dott. PIETRO RONDONI, aiuto e libero docente.

In questi ultimi anni si sono andati accumulando i lavori sulla *colorazione vitale* con colori acidi, come il *trypanblau*, l'*isaminblau* ed il *pyrrholblau*, (1) e con il *litiocarminio*. Questi due gruppi di colorazioni vitali, quella coi detti colori acidi e quella col carminio, pur introducendo sostanze tanto diverse dal punto di vista chimico, danno risultati simili dal punto di vista biologico ed istologico, come risulta dalla comparazione delle ricerche di *Goldmann*, *Bouffard*, *Steckelmacher*, *Foà*, *Evans*, *Bowman* e *Winternitz*, *Möllendorff*, *Schulemann* (che hanno lavorato coi detti colori acidi), con quelle di *Ribbert*, *Schlecht*, *Pari* e sopratutto con quelle recenti, esposte in forma monografica, di *Kiyono*, riferentisi alla colorazione vitale col carminio. Si ottiene sempre negli animali normali la colorazione di granuli intracellu-

(1) I due primi sono colori squisitamente acidi; il pyrrholblau è in fondo basico, ma ha anche proprietà acide a causa del suo gruppo pirrolico che può legare sali di K (*Goldmann*). Per quanto riguarda la composizione chimica del trypanblau, basta ricordare qui che esso appartiene ai colori della serie benzidinica: è dato da due gruppi amidosolfonaftolici legati fra loro da una o-tolidina diazotata.

lari, a preferenza nelle seguenti categorie di cellule: cellule del *Kupfer* nel fegato; endoteli reticolari della milza, ghiandole linfatiche, midollo osseo; epiteli secernenti (rene, varie ghiandole a secrezione interna); cellule interstiziali del testicolo e dell'ovaia; elementi istogeni del connettivo, specialmente poi in tutti gli organi quelli elementi connettivali che corrispondono ai clasmatociti di *Ranvier,* alle cellule ragiocrine di *Renaut*, alle *cellule migranti istogene* di vari autori, e che *Goldmann* ha chiamato *cellule pirroliche* appunto per la loro elettiva fissazione del *pyrrholblau* e colori consimili sotto forma di granuli nel protoplasma. Il sistema nervoso centrale, eccezion fatta dei plessi coroidei, e gli elementi propri del sangue non assumono mai il colore; soltanto nel sangue assumerebbero il carminio certe cellule bianche mononucleate, che dovrebbero costituire secondo *Aschoff* e *Kiyono* una speciale categoria di elementi del sangue a derivazione dagli endoteli e dagli splenociti, e che dagli stessi autori sono contrapposti col nome di *istiociti* agli elementi bianchi della serie linfocitica ed a quelli della serie mielocitica.

Non è mio intendimento di riportare qui per esteso la già ricca letteratura sulla colorazione vitale coi colori del gruppo del trypanblau e col litiocarminio; rimandando per le nozioni generali ormai acquisite e per la discussione sulla natura di questo immagazzinamento intravitale di colore ai già citati lavori e, per un succinto riassunto delle ricerche di *Goldmann* e di *P. Foà*, alla rivista sintetica del *Sella.*

Io mi occupo da qualche tempo di ricerche sulla colorazione vitale specialmente mediante il trypanblau, da me preferito agli altri colori acidi per la sua grande rapidità di colorazione, per la sua solubilità nel plasma sanguigno (onde, se iniettato nelle vene, non dà trombosi ed embolie, come fanno talora gli altri colori); e preferito poi al litiocarminio, perchè meno dannoso per gli animali, che ne tollerano quantità enormi, senza o con scarsi fatti patologici o con un lieve deperimento, ed un po' anche per la maggiore nettezza della colorazione degli organi e la più facile reperibilità anche di piccole quantità.

Io ho cercato di studiare col metodo della colorazione vitale diversi problemi patologici; ma ho visto che per certe questioni il

metodo non dà risultati particolarmente interessanti e mi limiterò a riferire in questa ed altre comunicazioni successive ciò che mi è parso più degno di nota fra i miei reperti.

* * *

Intanto riporto qui i risultati di un gruppo di esperienze sulla *reazione flogistica in animali in stato allergico*, vale a dire sensibilizzati rispetto all'agente flogogeno (siero eterologo), studiata appunto precipuamente (ma naturalmente non esclusivamente) colla colorazione vitale.

La infiammazione prodotta da sostanze a carattere di antigene decorre infatti con intensità diversa ed anche secondo taluno con caratteri qualitativamente diversi a seconda che l'agente flogogeno viene a contatto per la prima volta con un organismo vergine oppure agisce su un organismo già sensibilizzato per precedente trattamento coll'agente stesso: si ha insomma una vera *anafilassi locale*, tutte le volte che la reiniezione di un antigene avviene per qualunque via che non sia la intravenosa, e tale reazione locale ha più o meno i caratteri di un processo flogistico, intendendo con questo nome un processo morboso locale, in cui fatti essudativi, necrobiotici e proliferativi si intrecciano e si sovrappongono. Il *fenomeno di Arthus* è la forma più conosciuta di tale reazione anafilattica locale; e secondo *Dörr* dopo la reiniezione di siero eterologo si ha a fare sopratutto con un edema intenso, cui si associano presto fatti essudativi a carattere spesso emorragico, seguiti poi da necrosi, sequestro e consecutiva riparazione cicatriziale.

I fenomeni locali al punto di reiniezione dell'antigene sono stati studiati di recente con molta esattezza da *Fröhlich*, che usò il dispositivo di *Cohnheim*, per l'esame *in vivo* sul mesentere della rana. Le rane erano da questo autore sensibilizzate con siero di montone iniettato nel sacco linfatico dorsale; dopo 8–15 giorni aveva luogo l'esperimento, consistente nel collocare sul mesentere disteso sotto il microscopio una goccia di siero od una paglietta di siero disseccato. Mentre nelle rane di controllo (non previamente iniettate) la goccia di siero deposta sul mesentere aveva una azione locale minima, nella rana in stato di allergia si poteva osservare

la rapida comparsa di un forte edema, una forte vasodilatazione con rallentamento della corrente sanguigna fino alla stasi completa, un accumulo locale di leucociti, per ragioni, secondo l'autore, puramente meccaniche, un forte rigonfiamento dei cilindrassi dei nervi, la formazione di emorragie.

Un lavoro pure recente del *Rössle* si occupa precisamente dei caratteri dell' infiammazione nell' organismo allergico: quest'autore inoculava sangue di pollo sottocute a cavie normali ed a cavie previamente sensibilizzate con iniezione dello stesso sangue nel peritoneo, e trovava che l' ematoma si riassorbiva più lentamente negli animali sensibilizzati che nei normali; che l' iperemia, la tendenza ad emorragie, l'edema collaterale sono molto più forti nei primi; che nel tessuto di granulazione e nell'essudato degli animali allergici sono particolarmente abbondanti le cellule eosinofile, e, se lo stato allergico è molto pronunziato, prevalgono gli elementi mononucleati, di cui, dice l' autore, si ha l' impressione che molti siano di origine endoteliale. Il *Rössle* inoltre riferisce di alcune esperienze, fatte inoculando ai conigli preparati il siero nel peritoneo, dopo avere praticato la così detta finestra peritoneale: si osserverebbe così una vera peritonite allergica, ad essudato ricco in eosinofile.

Un rapporto fra cellule eosinofile ed anafilassi era del resto già precedentemente ammesso e discusso. Così *Schlecht* e *Schwenker* notavano eosinofilia sanguigna nelle cavie che avevano superato un lievo shock, ed un forte accumulo di elementi eosinofili attorno ai bronchi nelle cavie morte per shock anafilattico lieve e prolungato; e, iniettando ripetutamente siero umano inattivo nel sottocutaneo degli stessi animali, trovavano che, mentre l'essudato formato in seguito alle prime iniezioni constava principalmente di pseudoeosinofili, la forma leucocitaria più comune in questa specie, dalla terza iniezione in poi si aveva un essudato sempre più ricco di eosinofile: onde questi autori erano indotti ad ammettere una azione eosinofilotattica della anafilotossina.

Di fronte a questi reperti ed a queste deduzioni di *Schlecht* e *Schwenker* troviamo però i risultati di un accurato lavoro di *Weinberg* e *Seguin*, i quali hanno dimostrato che nelle cavie l'eosinofilia sanguigna, come l'accumolo di eosinofile nella cavità pe-

ritoneale, nell'omento, attorno ai bronchi, nel sottocutaneo, si producono con estrema facilità sotto l' influenza di sostanze eosinotattiche varie, fra cui anche i sieri eterologhi, e specialmente estratti di elminti: così spesso il 30 °/₀ delle cellule della cavità peritoneale, anche in condizioni normali, sono vere eosinofile, talora anche più. Ripetendo la iniezione del materiale eosinotattico, i centri emopoietici rispondono sempre più prontamente ed energicamente colla messa in circolo di eosinofile, e questo fatto simulerebbe una azione eosinotattica della anafilotossina.

Infine devo ricordare che *Szecsi* ed *Ewald* hanno trovato nel peritoneo normale di cavie da 3 a 60 °/₀ di eosinofile; e devo citare il lavoro recentissimo di *Rackemann*, uscito in America mentre io stavo compilando queste note, secondo cui viene confermata una eosinofilia normale (fino a 45 °/₀), e viene studiato il comportamento delle cellule libere nel liquido peritoneale di cavia in seguito ad iniezione di varie sostanze, prendendo specialmente in considerazione l' iniezione di siero eterologo in animali normali e sensibilizzati: l'autore americano conclude che comunemente il peritoneo risponde all' iniezione di siero, soluzione fisiologica, acqua, istamina con diminuzione dei macrofagi, aumento transitorio di linfociti, aumento forte dei polinucleati (che normalmente mancano o sono scarsissimi), lieve aumento di eosinofile; e che l'unica differenza fra cavie nuove e cavie sensibilizzate sta nel ritardo e nella minore intensità della *risposta polinucleare* in queste ultime.

Io ho sopratutto cercato di controllare i dati suesposti, sopra la differenza qualitativa e quantitativa nella flogosi a seconda che decorre in organismo normoergico o allergico, e di vedere se la colorazione vitale (finora da nessuno qui applicata, per quanto mi consta) porta a qualche risultato degno di nota.

Ho sensibilizzato delle cavie assai robuste (in tutte 20) con 0,4–0,5 cc. di siero di bue per via sottocutanea; quindi le ho colorate vitalmente con iniezioni ripetute (5–10 cc. per volta) di trypanblau sciolto all'1 °/₀ in soluzione fisiologica di cloruro di sodio, fino a che gli animali avessero un bel colore bleu della pelle e mucose visibili, senza generalmente tirare la colorazione al massimo possibile per le ragioni che spiegherò in seguito. Dopo 40 giorni circa dalla prima iniezione di siero ho praticato la reiniezione, con 1–2 cc. del siero di

bue, per vie diverse: nel peritoneo, sottocute (regione della coscia), nella cavità pleurica. Da notare che delle 20 cavie sensibilizzate non tutte sono arrivate all'epoca della reiniezione; qualcuna è morta per l'azione tossica primaria del siero di bue (che ho scelto appunto per avere fatti reattivi netti anche alla prima iniezione e paragonarli con quelli della reiniezione), alcune nel corso delle ripetute iniezioni di colore senza una causa apparente tranne probabilmente una certa azione dannosa del trypanblau ed il trauma ripetuto: così che la reiniezione si è praticata solo su 10 cavie e precisamente 4 volte nel peritoneo, 4 nella pleura e 2 sottocute.

Contemporaneamente alla colorazione delle cavie allergiche, io naturalmente coloravo con dosi eguali di trypanblau delle cavie normali, in numero di 8, di cui persi una sola nel corso della colorazione; e insieme alla reiniezione delle cavie allergiche col siero di bue, inoculai per vie eguali (3 nel peritoneo, 2 sottocute e 2 nella pleura) e con dosi eguali queste cavie *nuove*.

La reiniezione di siero nelle cavie sensibilizzate ha dato luogo sempre ad uno shock attenuato, per cui le cavie sono morte in 2–24 ore; parallelamente ho ucciso le cavie nuove di controllo, e così ho potuto avere dei reperti non numerosi ma chiari e confrontabili.

Subito dopo morte, ho sezionato le cavie e prelevato da quelle iniettate nel peritoneo l'omento e pezzi di parete addominale; da quelle iniettate nella pleura pezzi di polmone omo– e controlaterale rispetto alla iniezione; da quelle iniettate sottocute, la pelle, il sottocutaneo e le masse muscolari del punto di iniezione in blocco. Di tutte le cavie ho prelevato poi i principali organi parenchimali. Ho fissato tutto in formolo 10 %, che conserva benissimo la colorazione vitale, conforme ai dati di *Goldmann*; qualche pezzo anche in Zenker ed in Schaudinn; ed incluso in paraffina. Le sezioni sono state colorate con carmallume, ed in parte (per i dettagli non inerenti alla colorazione vitale) con emallume–eosina e col Giemsa.

Macroscopicamente non si osservava gran che: la tumefazione locale alla reiniezione sottocutanea nelle cavie allergiche è stata certo più imponente che nelle normoergiche di controllo; ed anche in quelle reiniettate nel peritoneo o nella pleura l'arrossamento della sierosa ed il versamento libero (sieroso o sierofibrinoso) è stato più evidente che non in quelle di controllo iniettate per la prima volta, ove anzi il reperto era presso a poco negativo.

I reperti microscopici si sono presentati nel modo seguente:

Cavie nuove iniettate nel peritoneo (in numero di 3, uccise dopo 2-5-24 ore).

La colorazione vitale dimostra molto bene grosse cellule granulose in tutto l'omento (cellule pirroliche di *Goldmann*, clasmatociti di *Ranvier*), aggruppate più specialmente attorno ai vasi (macchie lattee) e verso la superficie omentale; le cellule connettivali fisse (fibroblasti) e le cellule a tipo linfocitico, come pure le cellule adipose, sono generalmente incolore (ossia sono colorate dal colore di contrasto, il carmallume); anche gli elementi di rivestimento del peritoneo sono incolori, salvo minime granulazioni bleu quà e là. Belle cellule a grossi granuli bleu si osservano nel pancreas, fra gli acini ghiandolari, e talvolta sembra inviino prolungamenti fra le cellule epiteliali di questi. Anche rispetto alle isole del Langerhans (i cui elementi non sono colorati vitalmente) si osserva, sebbene più di rado, lo stesso comportamento, che ricorda ciò che *Goldmann* descrive e figura (tavola XII della sua prima monografia) a riguardo delle cellule interstiziali del testicolo rispetto ai tubuli seminiferi. Viene naturalmente l' idea di un apporto di materiali nutritizi da parte dei clasmatociti verso gli elementi secernenti, come vuole *Goldmann*; ma non possiamo confermare in modo assoluto questa idea col solo reperto morfologico. Tutto ciò in fondo è presso a poco quel che si vede in animali normali colorati col trypanblau; solo il siero sembra avere prodotto nelle cavie uccise nelle prime ore dopo l' iniezione un certo grado di iperemia, perchè i vasellini omentali sono turgidi di sangue, ed avere anche dato qua e là dei fatti di essudazione, rivelati da una certa maggior ricchezza di elementi linfocitari e leucocitari nell' omento, commisti fra le cellule a granuli bleu; ma queste non sono aumentate rispetto al normale, solo pare abbiano i granuli bleu più grossi o talora a forma come irregolare, quasi risultassero dalla fusione di più granuli minori. Un reperto si ha nella cavia morta 24 ore dopo l' iniezione di siero, che non ho trovato nell'omento di cavie normali semplicemente colorate: la presenza qua e là nell'omento, senza rapporti coi vasi, come di grossi ammassi di protoplasma scarsamente colorato dal carminio, ben colorato dall' eosina (nei preparati alla ematossilina ed eosina), granuloso finemente, ma senza granuli di colore vitale, con entro dei nuclei sparsi o aggruppati, chiari, scarsamente cromatinici, talora in via di cromatolisi; sembrano cellule giganti, di forma plurilobata, rotonda, ovalare, talora in via di necrosi.

In queste cavie si osservano fatti di necrobiosi (rigonfiamento torbido, disfacimento granulare) negli epiteli dei tuboli renali, in cui la deposizione di bleu è piuttosto scarsa ed irregolare.

Cavie sensibilizzate reiniettate nel peritoneo (in numero di 4, morte dopo 2–4–15–23 ore).

In tutte si osserva, per quanto riguarda le cellule granulose, un reperto poco diverso da quello delle cavie precedenti e quindi da quello di cavie normali, semplicemente colorate col trypanblau. Tali cellule sono non più numerose del normale nell'omento e nei setti connettivali che si addentrano fra gli acini pancreatici. Le differenze rispetto alle cavie nuove esistono però, e si rilevano anche e specialmente colle comuni colorazioni: il tessuto omentale è fortissimamente iperemico, con qua e là infiltrazione emorragica, quasi dovunque con aspetto edematoso; tutto l'omento è fittamente infiltrato di leucociti e specialmente di linfociti (mai colorati vitalmente): spesso i vasellini sono circondati da veri manicotti di linfociti. Si può dunque parlare in queste cavie di un intenso processo flogistico (a carattere emorragico), specialmente evidente nelle due cavie morte più tardi. Si osservano anche qui (non più numerose che nelle cavie nuove) le descritte formazioni a tipo di cellule giganti. Da notarsi la più intensa necrobiosi degli epiteli dei tuboli renali rispetto alle cavie nuove; e, nelle due cavie morte più tardi, il forte accumolo di linfociti anche nella milza (ove la polpa è relativamente poco sviluppata in confronto alla accentuazione del sistema linfocitico–follicolare), nonchè nel fegato, ove si scorgono i linfociti aggruppati entro i vasi, a formare qualche volta una specie di trombi linfocitici.

Cavie nuove iniettate nella pleura (in numero di 2, uccise dopo 2 e 20 ore). I polmoni e la pleura polmonare non presentano notevoli alterazioni, tranne dei rari infiltrati linfocitari attorno ai vasellini più superficiali del polmone, fatti di necrosi e desquamazione degli elementi di rivestimento della pleura, un po' di tendenza alla congestione nei vasellini sottopleurici. Qua e là i manicotti linfocitari sono discretamente sviluppati. Le cellule a granuli bleu sono scarse; sono più numerose là dove gli infiltrati linfocitici sono più spiccati ed allora sono disposte perifericamente a detti infiltrati. Dunque il siero ha avuto una lieve azione flogogena sulla pleura e sulla parte più superficiale del polmone; ma è da notare che essa mai arriva a dare un essudato liquido o solido negli alveoli, in cui col metodo di *Weigert* non si dimostra affatto fibrina.

Cavie sensibilizzate reiniettate nella pleura (in numero di 4, morte

dopo 2-4–20–22 ore). Il quadro istopatologico è oltremodo caratteristico : il tessuto polmonare, non solo quello sottopleurico, ma anche quello assai profondo, offre delle zone fittamente infiltrate, che risultano da grossi manicotti di infiltrazione perivasale e peribronchiale in parte confluenti fra loro: in dette zone anche gli alveoli sono ripieni di elementi cellulari, come fittamente infiltrati sono i setti interalveolari. Gli elementi infiltranti sono a prevalenza linfociti e in minoranza polinucleati ; non vi ho potuto scorgere particolare abbondanza di cellule eosinofile sui preparati all'emallume ed eosina o al Giemsa (da pezzi fissati in Zenker e in Schaudinn del polmone delle cavie morte più tardi). Inoltre il processo si distingue per la speciale tendenza iperemico–emorragica : qua e là si hanno punti ove si ha l'apparenza di veri infarti emorragici. Rare le cellule a granulazioni bleu : si può dire che c' è un netto antagonismo fra l' intensità dei fenomeni vasali ed essudativi e lo scarso o nullo risentimento delle cellule granulose, che non tendono per niente ad accumularsi attorno ai focolai flogistici. Devo sinceramente notare che queste cavie (sono quelle morte più tardi, a cui si riferisce particolarmente la fatta descrizione) erano non tanto intensamente colorate ; forse un certo numero di cellule granulose, ammesso che non tutte abbiano la stessa affinità tintoriale, può essere sfuggito alla colorazione vitale : ad ogni modo, siccome quelle che si vedevano erano ben colorate ed evidenti, nè sembravano risentire nella loro distribuzione la particolare influenza del processo flogistico pleuro-polmonare, mi pare potere ritenere senza tema di errore che almeno una notevole compartecipazione delle dette cellule al processo non sussiste.

Anche nel polmone dal lato opposto alla reiniezione di siero si hanno lievi infiltrati coi medesimi caratteri.

Cavie nuove iniettate sottocute (in numero di 2, uccise dopo 5 e 21 ore). Nel punto di iniezione gli strati profondi del derma ed il sottocutaneo sono infiltrati qua e là di leucociti polinucleati e di linfociti. Tali infiltrati si fanno per lo più attorno ai vasi, e spesso si addentrano fra i fasci muscolari più superficiali ; non sono mai imponenti. Non sono aumentate o di ben poco rispetto alla cute normale le cellule granulose nei pressi degli infiltrati.

Cavie sensibilizzate reiniettate sottocute (in numero di 2, morte dopo 4 e 21 ore). Il reperto è di gran lunga più spiccato che nelle precedenti : poderosi infiltrati, prevalentemente perivasali, spiccano in tutto il tessuto dermico e sottocutaneo ed avvolgono in parte i fasci muscolari, le cui fibre hanno sovente aspetto omogeneo, vitreo, ri-

gonfio. L'essudato è formato da polinucleati e linfociti, forse con più prevalenza dei linfociti, che nel gruppo precedente di cavie, ma sempre con minore compartecipazione dei linfociti che non negli infiltrati polmonari. Tutto il sottocutaneo appare poi come edematoso; qua e là si osservano stravasi emorragici. Le cellule colorate vitalmente sono pochissimo o punto aumentate in confronto alle cavie del gruppo precedente ed a cavie normali; esse si vedono sempre fuori degli infiltrati, non prendendo mai parte diretta alla loro formazione. Non mi è parso di notare una speciale compartecipazione di eosinofile alla formazione degli essudati.

Se vogliamo concludere da queste osservazioni, dovrei dire, che la colorazione vitale col trypanblau permette sempre di differenziare nel connettivo dei più svariati organi particolari elementi cellulari, coi caratteri già descritti da vari autori (abbondante protoplasma, spesso con prolungamenti, ricco in granulazioni che fissano elettivamente il colore vitale; nucleo più piccolo che nei fibroblasti, a contorni più irregolari, a blocchi di cromatina più grossi; mobili o mobilizzabili, spesso dotati di potere fagocitario): elementi che *Goldmann* ha chiamato *cellule pirroliche*, *cellule migranti istiogene*, e che egli stesso ed altri identificano coi *clasmatociti* di *Ranvier* e colle *cellule ragiocrine* di *Renaut*. Questi elementi sono certamente istogeni secondo *Goldmann*, che anzi li contrappone alle cellule migranti ematogene. È certo che su pochi argomenti regna confusione come sulla classificazione ed istogenesi degli elementi connettivali, sia di quelli del connettivo normale che di quelli del connettivo in stato di irritazione flogistica. Se leggiamo i lavori di *Goldmann* troviamo espressa l'idea che queste sue cellule pirroliche (come le cellule ragiocrine secondo *Renaut*) siano in stretti rapporti genetici colle cellule fisse generatrici dei fasci collageni o fibroblasti; però d'altro lato egli le identifica coi clasmatociti, che invece *Maximow* separa assai nettamente dalle cellule fisse, ritenendo che essi provengano più che altro da cellule migranti, le quali in ultima analisi sarebbero di origine ematogena o almeno avrebbero un'origine comune cogli elementi del sangue. A me pare, che la colorazione vitale col trypanblau permetta di distinguere assai bene, fra gli elementi da essa colorati e che seguiteremo a chiamare istiogeni (lasciando

da parte la questione di una *remota* derivazione da elementi ematogeni), da un lato i fibroblasti e dall'altro le cellule pirroliche o clasmatociti, appunto per la diversa affinità delle due categorie cellulari per il colore, quale si rivela nelle colorazioni non tirate al massimo. Infatti in questo caso si colorano quasi elettivamente i granuli protoplasmatici delle cellule migranti istogene, le quali spiccano appunto per la loro caratteristica granulazione bleu, mentre i fibroblasti, ad affinità tintoriale minore, non si colorano o presentano tutto al più scarse granulazioni bleu; invece per effetto di incorporazioni massimali di colore tutti gli elementi istogeni restano colorati abbastanza intensamente, sebbene spesso con modalità ed in grado diverso come ho veduto io stesso e come si rileva dai lavori di *Goldmann*. Io credo appunto particolarmente adatto il mio materiale a differenziare il comportamento delle cellule fisse dalle mobili, perchè proveniva da animali colorati non fortissimamente, nei quali dunque le cellule che per intendersi ho chiamato cellule granulose sono colorate quasi in modo elettivo, dotate come sono di un'affinità chimica massimale per il colore, o, volendo adottare una teoria fisico-chimica della colorazione vitale, offrenti nel loro protoplasma condizioni optimali di precipitazione per il colore.

In conclusione può farsi secondo me la seguente classificazione schematica degli elementi cellulari connettivali in riguardo alla colorazione vitale con questo gruppo di colori, prescindendo da ogni considerazione di istogenesi remota:

Cellule non colorabili mai vitalmente		**— Cellule migranti ematogene.**
Cellule colorabili vitalmente	**soltanto per colorazioni intensissime degli animali**	**— Cellule fisse istogene (fibroblasti).**
	anche per colorazioni di media intensità degli animali.	**— Cellule migranti istogene (clasmatociti, cellule rageocrine, cellule pirroliche, cellule carminofile, forse parte dei poliblasti di *Maximow*, che in parte potrebbero essere anche ematogeni).**

Comunque sia, è un fatto che le cellule a granuli bleu coi caratteri di quelle descritte da *Goldmann* le ritroviamo spesso mo-

bilizzate ed attive in vari processi infiammatori: io, per familiarizzarmi cogli elementi del tessuto di neoformazione flogistica, ho fatto alcune poche esperienze, in conigli colorati col trypanblau, secondo il metodo di *Maximow*, cioè colla immissione nel sottocutaneo di camere di vetro o di tubetti vuoti di celloidina, ed estrazione dopo 12–24–48–72 ore: le cellule granulose abbondano realmente nel tessuto di neoformazione flogistica fino dai periodi più precoci della flogosi ed hanno tendenza a disporsi in strati a tappezzare il corpo estraneo oppure formano accumuli lungo i vasi (cellule avventiziali di *Marchand*). Si tratta dunque certo di elementi dotati di alto valore funzionale, che forse non si esaurisce nel processo della fagocitosi, durante la flogosi: ed era appunto interessante per me vedere come essi si comportassero rispetto al veleno anafilattico, cioè allorchè la flogosi si svolge per opera di un antigene in organismo sensibilizzato.

Intanto ho veduto che il siero eterogeneo di per sè produce localmente nella cavia scarsi fatti flogistici, cui compartecipano sopratutto gli elementi ematogeni; e che lo stesso siero poi negli animali in stato allergico dà luogo ad una reazione flogistica molto più intensa ma che in fondo qualitativamente non diversifica molto. Lo stimolo flogistico anafilattico (o, se vogliamo, per intendersi, l'azione flogogena della anafilotossina) agisce sopratutto sui vasi, provocando congestione, emorragie, essudazione di liquido (edema più o meno intenso nel punto della reiniezione) e di elementi morfologici.

Questi elementi morfologici sono più spesso linfociti, che mai si colorano vitalmente; ed anche nell'omento, ove pure deve ammettersi per ricerche di vari autori che citerò in una prossima comunicazione una derivazione istogena di elementi linfocitosimili (e precisamente dalle cellule granulose o clasmatociti delle macchie lattee), si scorgono nettamente, in seguito alla reiniezione intraperitoneale del siero, dei manicotti perivasali di linfociti colorati esclusivamente dalla colorazione di contrasto, con tutti i segni di una origine ematogena. Dai miei preparati, e specialmente da quelli provenienti dalle cavie reiniettate nella pleura, si trae la convinzione della possibilità della derivazione di veri infiltrati linfocitari (parvicellulari) da emigrazione di linfociti circolanti, come è voluta

da *Zieler*, *O. Fischer*, *Schridde*, *Maximow* e come sarebbe negata secondo le vedute di *Marchand*, che anche *Pappenheim* sembra accettare e che *Sternberg* ha particolarmente difeso. Quando, come qua e là nei miei preparati, si vedono i linfociti accumulati entro il lume vasale e lì presso si vedono dei linfociti a formare dei manicotti perivasali, non si può negare l'origine ematogena dei linfociti dei medesimi manicotti di infiltrazione e la loro fuoriuscita dai vasi *durante* il processo flogistico.

Inoltre i risultati della colorazione vitale col trypanblau sono assai concordi con quelli ottenuti per es. da *Kiyono* colla colorazione vitale mediante il carminio: anch' egli vide che i linfociti degli infiltrati flogistici non sono di regola carminofili e ne esclude quindi l'origine istogena.

Talora lo stimolo flogistico anafilattico agisce anche sui polinucleati, ed è interessante notare come tale prevalenza di azione sull' uno piuttosto che sull'altro tipo cellulare sia diversa a seconda dell'organo: nella pelle l' infiltrazione flogistica da reiniezione di siero è data *anche* da polinucleati in discreta quantità.

In quanto alle eosinofile io non saprei con *Rössle* e con *Schlecht* e *Schwenker* vederne una speciale compartecipazione alla formazione dell'essudato nell' organismo allergico: mi pare, anche tenuto conto della *normale e molto oscillante eosinofilia* del sangue e di alcuni umori e tessuti nella cavia (*Weinberg* e *Seguin*, *Szecsi*, *Secsi* ed *Ewald*, *Rackemann*), di non potere ammettere in base ai miei preparati una speciale azione eosinotattica dell'anafilotossina.

I caratteri dunque della flogosi nell'organismo in stato allergico di fronte all'agente flogogeno (siero eterologo) sono: *notevole intensità, carattere emorragico, compromissione vasale notevole con formazione di abbondante essudato, in cui hanno parte più o meno larga i linfociti;* di fronte a questa rilevante compartecipazione degli elementi ematogeni spicca, anche negli animali morti per shock anafilattico assai prolungato, la *nulla o scarsissima mobilitazione degli elementi migranti istogeni a tipo di clasmatociti, colorabili vitalmente*, che pur risentono sì vivacemente ed anche precocemente di tanti altri stimoli flogistici. Si può dire che tali elementi migranti istogeni, non accumulandosi nè notevolmente

ipertrofizzandosi là dove si svolge la flogosi da anafilotossina, sono a questa poco sensibili, mentre sensibilissimi sono i linfociti e secondariamente i polinucleati: l'impronta della flogosi in organismo allergico sarebbe dunque essenzialmente l'accentuazione dei fatti vasali-essudativi. In quanto agli elementi istogeni fissi, a minore affinità per il colore vitale (fibroblasti), si può naturalmente comprendere il loro non risentimento, data l'acuzie e la breve durata della flogosi anafilattica.

In fondo queste conclusioni spiegano i reperti di altri autori o coincidono con questi: così *Rackemann* trova che i macrofagi (istiogeni, derivanti dai clasmatociti dell'omento) nel peritoneo della cavia scemano per l'iniezione di siero, mentre aumentano prima i linfociti e poi i polinucleati; ed in ricerche meno recenti *Wolf*, *Scott*, *Doerr*, *Gay* e *Southard* avrebbero trovato lesioni vasali, dimostrabili talora anche microscopicamente negli endoteli, sotto l'azione del veleno anafilattico. *Sacerdotti* poi, studiando la leucopenia anafilattica, ammette che i leucociti si accumulino negli organi profondi: ora ciò sta in armonia coi miei reperti di forti infiltrazioni locali nel punto di reiniezione per parte di elementi bianchi del sangue e con qualche reperto di infiltrazione linfocitaria da me pure ottenuta talora negli organi interni di animali morti per shock prolungato.

Insomma la colorazione vitale col trypanblau serve qui a definire morfologicamente una caratteristica dell'azione del veleno anafilattico: esso agisce a prevalenza sui vasi e sulle cellule ematogene, e risparmia piuttosto certi elementi mobili istogeni, quali appunto quelli colorabili vitalmente in modo elettivo dai colori del gruppo del trypanblau.

Bibliografia.

ASCHOFF, Verhand. d. deutschen pathol. Gesellschaft, 16 Tagung, pag. 107, 1913.

ASCHOFF e KIYONO, Folia haematol., Bd. 15, 1913.

BOUFFARD, Annales d. l'Institut Pasteur, T. XX, n. 7, 1906.

DOERR, Wiener Klin. Woch., n. 9, 1912.

DOERR, « Allergie u. Anaphylaxie » nell'« Handb. d. pathog. Mikroorg » di KOLLE e WASSERMANN, 2ª ediz.

EVANS, BOWMAN e WINTERNIZ, Journal of exper. Medic., vol. 19, n. 3, 1° marzo 1914.

FISCHER O., Ziegler's Beitr., Bd. 45, H. 3, 1909.

FOÀ P., Memorie R. Accad. della scienze di Torino, serie II, LXII, Pathologica, Vol. II, 1911.

FRÖHLICH, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig., Bd. 20, pag. 476.

GAY e SOUTHARD, Journal of exper. medicine, Vol. 16, 1907.

GOLDMANN, Die aüssere u. innere Sekretion des gesunden Organismus im Lichte der vitalen Färbung. H. Laupp, Tübingen, 1909.

GOLDMANN, Neue Untersuchungen ueber die aüssere u. innere Sekretion . . . . . , H. Laupp. Tübingen, 1912.

KIYONO, Die vitale Karminspeicherung, Fischer, Jena, 1914.

MARCHAND, Verhandl. d. deutschen pathol. Gesellschaft. 16 Tagung, 1913.

MAXIMOW, Ziegler's Beitr. 5 Supplementheft, 1902.

MÖLLENDORFF, Deutsche med. Woch., n. 41, 1914.

NOLF, Arch. intern. de physiologie, T. 10, n. 1, 1910.

PAPPENHEIM, Folia haematol., Bd. 17, 1913.

PARI, Sperimentale. Anno LXVI, fasc. 6.

PARI, Frankf. Zeitschr. f. Pathol., Bd. 4, 1910.

RACKEMANN, Journal of infectious diseases, Vol. 17, n. 3, 1915.

RANVIER, Arch. d'Anatomie microscopique, 1899, 1900.

RENAUT, Arch. d'Anatomie microscopique., T. 9, n. 3-4.

RIBBERT, Zeitschr. f. Allg. Physiol., Bd. 4, 1904.

RIBBERT, Virchow's Arch., Bd. 150.

RIBBERT, Centralbl. f. allg. Patholg. Bd. 1.

RÖSSLE, Verhandl. d. deutschen pathol. Gesellsch, 17 Tagung, pag. 281, 1914.

SACERDOTTI, Archivio scienze mediche, Vol. 35, 1911.

SCHLECHT, Ziegler's Beitr., Bd. 40, H. 2, 1907.

SCHLECHT e SCHWENKER, Arch. f. exper. Pathol., Bd. 68, H. 3, 1912.

SCHLECHT e SCHWENKER, Deutsch. Arch. f. Klin. Med., Bd. 108, H. 5, 1913.

SCHRIDDE, Ziegler's Beitr., Bd. 55, H. 2, 1913.

SCHULEMANN, Arch. f. mikrosk. Anatomie, Bd. 79, pag. 223, 1912.

SCOTT, Journal of pathol. a. bacteriol., Vol. 15, 1910.

SELLA, Pathologica, Vol. IV, 1912.

STECKELMACHER, Ziegler's Beitr., Bd. 57, H. 2, 1913.

STERNBERG, Verhandl. d. deutschen pathol. Gesellschaft, 16 Tagung, pag. 81, 1913.
SZECSI, Folia haematol., Bd. 13, H. 1. 1912.
SZECSI e EWALD, Folia haematol., Bd. 17, pag. 167, 1913.
ZIELER, Centralbl. f. Allg. Pathol, n. 8, 1907.
WEINBERG e SEGUIN, Annales de l'Institut Pasteur, T. 28, pag. 470, 1914.

Spiegazione delle figure (Tav. XXX).

(Oc: 4 comp.; ob: imm. om. 2 mm. apocr. Koristka).

FIGURA 1. — Omento di cavia normale colorata vitalmente col trypanblau. Fissazione in formolo, colorazione di contrasto con carmallume. Numerose *cellule granulose*. Il reperto nelle cavie *nuove* iniettate con siero nel peritoneo non differisce molto dal normale.

FIGURA 2. — Omento di cavia sensibilizzata e reiniettata con siero nel peritoneo, colorata come sopra. Dominano i rilevanti infiltrati linfocitari, specialmente presso i vasi; le *cellule granulose* non hanno tendenza ad accumolarsi presso o nei focolari di infiltrazione. Sono dunque principalmente gli elementi ematogeni, non colorabili vitalmente, che sono sensibili allo stimolo flogistico anafilattico.

1

2

P. RONDONI — *La reazione flogistica nell'organismo in stato allergico,.....*

E. Giandotti, dis. Istituto Micrografico Italiano - Firenze

FIRENZE

SOCIETÀ TIPOGRAFICA FIORENTINA

33 - VIA S. GALLO - 33

1916